



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **73047** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
A61K 35/00
C08B 37/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 02030	(72) Винахідник(и): Черно Наталія Кирилівна (UA), Гураль Лариса Сергіївна (UA), Ломака Олена Володимирівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.02.2012	(73) Власник(и): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.09.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.09.2012, Бюл.№ 17	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ АРАБІНОГАЛАКТАНУ

(57) Реферат:

Спосіб одержання арабіногалактану включає екстракцію з тирси деревини хвойної породи, відокремлення екстракту і наступне його упарювання, осадження органічним розчинником цільового продукту, його промивання і сушіння. Тирсу сосни екстрагують ацетатним буфером целовіридину при гідромодулі 1:(5-10) протягом 1-8 годин і температурі 45-50 °С. Суміш кип'ятять, фільтрують, цільовий продукт осаджують етиловим спиртом і виділений таким чином цільовий продукт промивають етиловим спиртом та сушать.

UA 73047 U

Корисна модель належить до біотехнології і стосується способу одержання арабіногалактану.

Відомий спосіб отримання арабіногалактану із деревини модрина [Авт. свід. N303877 C08b 19/00, бюл. № 10, 1975] шляхом водної екстракції при температурі 80-90 °С. Реакційну суміш охолоджують, фільтрують, водний екстракт очищують, застосовуючи колонку з поліамідним сорбентом, після чого промивають колонку водою. Об'єднаний елюат упарюють у вакуумі з метою концентрування полісахариду. Із елюату арабіногалактан осаджують 6-кратним об'ємом етилового спирту.

Недоліки цього способу:

- застосування методу хроматографії на поліамідному сорбенті для очищення полісахариду;
- висока вартість поліамідного сорбенту;
- після концентрування цільового продукту накопичується великий об'єм водного розчину;
- нераціональне використання етилового спирту.

Відомий також спосіб вилучення арабіногалактану із деревини модрина [див. патент US № 3509126 C1=260-209.5 C 086, 1967] шляхом екстракції 4-кратним об'ємом води щодо сировини протягом 24 год. при температурі 24 °С. До отриманого екстракту з метою окиснення в ньому фенольних сполук додають 0,5 % розчин хлордіоксиду ClO₂. Для інтенсифікації процесу окиснення фенольних сполук застосовують процес перемішування протягом 1 год. Подалі для видалення надлишку хлордіоксиду через екстракт продувають нітроген, після чого рідину упарюють при температурі 60-70 °С. Арабіногалактан із рідкої фази осаджують 5-кратним об'ємом метилового спирту (щодо екстракту) при температурі 60 °С. Потім осад полісахариду, що утворився, промивають 3-кратним об'ємом метилового спирту і висушують при температурі 65-70 °С.

Недоліки цього способу:

- застосування високоактивного окисника, що затрудняє реалізацію технологічного процесу в промисловості;
- метиловий спирт належить до категорії ядів, що потребує високої стійкості технологічного обладнання і підвищеної безпеки до режиму проведення технологічного процесу;
- даний спосіб виділення є небезпечним з екологічної точки зору.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб одержання арабіногалактану із деревини модрина [див. патент РФ № 2040268] екстракцією водою при температурі навколишнього середовища (гідромодуль 1:(5-7) протягом 1,5 год. Відфільтрований водний екстракт упарюють до 1/2 вихідного об'єму, охолоджують і при постійному перемішуванні, вливають в 1,5-кратний об'єм ацетону з додаванням до реакційної суміші натрій хлориду таким чином, щоб масова частка NaCl становила 0,2-0,3 %. Рідку фазу декантують, арабіногалактан у вигляді осаду промивають ацетоном і висушують.

10 г тирси деревини модрина (вологість 7,1 %) заливають 46,5 см³ дистильованої води (співвідношення сировина: вода - 1:5), періодично струшують протягом 1,5 год. при кімнатній температурі (19-22 °С), після чого водний екстракт відфільтровують (37,0 см³), упарюють до об'єму 18,5 см³ і при постійному перемішуванні вливають в 28 см³ ацетону і добавляють 0,04 г натрій хлориду (0,2 % від водного екстракту). При цьому осаджується арабіногалактан. Рідку фазу декантують. Осад промивають 3 см³ ацетону і сушать при температурі 60-70 °С. Вихід арабіногалактану становить 0,84 г (9,1 % в перерахунку на масу сухої деревини). Ступінь чистоти полісахариду 99,75 %.

Даний спосіб вибрано прототипом.

Прототип і спосіб, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- екстракція тирси деревини хвойної породи екстрагентом;
- відокремлення екстракту;
- упарювання екстракту;
- осадження з екстракту цільового продукту з використанням органічного розчинника;
- промивання;
- висушування.

Спосіб за прототипом має такі недоліки:

- використання ацетону, оскільки він є вибухонебезпечним - температура спалаху 20 °С;
- ацетон має збудливу та наркотичну дію, вражає центральну нервову систему і тому потребує підвищеної техніки безпеки в роботі з ним;
- сушіння арабіногалактану при температурі 60-70 °С, що негативно впливає на функціонально-фізіологічні властивості кінцевого продукту.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити удосконалений спосіб отримання арабіногалактану, в якому шляхом заміни сировини, умов екстракції та умов вилучення цільового продукту, забезпечити більший вихід цільового продукту з високим ступенем чистоти.

Поставлена задача вирішена в способі одержання арабіногалактану, що передбачає екстракцію з тирси деревини хвойної породи, відокремлення екстракту і наступне його упарювання, осадження органічним розчинником цільового продукту, його промивання і сушіння, тим, що тирсу сосни екстрагують ацетатним буфером целовіридину при гідромодулі 1:(5-10) протягом 1-8 годин і температурі 45-50 °С, суміш кип'ятять, фільтрують, цільовий продукт осаджують етиловим спиртом і виділений таким чином цільовий продукт промивають етиловим спиртом та сушать.

Заявником було здійснено скринінг найбільш перспективної з точки зору вмісту арабіногалактану рослинної (деревинної) сировини, яка зростає на території України, і збільшення виходу арабіногалактану із деревини. Встановлено, що найбільше водорозчинного полісахариду міститься в сосні в порівнянні з ялиною, ялицею і кедром. Водночас, сосна є найрозповсюдженішою в Україні і переробляється у промислових масштабах. Це призводить до накопичення значних об'ємів відходів у вигляді тирси та стружки.

З метою дезінтеграції клітинних оболонок сировини застосували целюлолітичні ферменти з целюлазною та геміцелюлазною активностями (целюлігнорин, целоколінгін, целовіридин і целокандін). Оскільки целюлолітичні ферменти проявляють максимальну активність при температурі від 45 до 50 °С, тому вилучення арабіногалактану у присутності целюлаз здійснювали в межах зазначених температур. Співвідношення сировина: екстрагент в існуючих способах вилучення арабіногалактану пропонується при гідромодулі (ГМ) від 1:5 до 1:10. Вихід водорозчинного полісахариду (арабіногалактану) контролювали протягом 8 годин. При вилученні арабіногалактану економічно вигідно та безпечніше використання етилового спирту в порівнянні з метанолом та ацетоном.

Дезінтеграція клітинних оболонок сировини целюлолітичними ферментами при $t=45$ °С, ГМ=1:5, протягом 6 год. сприяла збільшенню виходу водорозчинного полісахариду із тирси сосни в порівнянні способом водної екстракції. Дані експерименту наведено в табл. 1.

Вибір целюлолітичного ферментного препарату для екстракції водорозчинного полісахариду із тирси деревини сосни підібрано експериментально. Дослідження проводили в присутності целюлолітичних ферментів при $t=50$ °С і різних значеннях гідромодулів 1:(5-10). Дані наведено в табл. 2. Встановлено, протягом 6 год. найбільшу кількість арабіногалактану отримали при застосуванні целовіридину в порівнянні з іншими целюлолітичними ферментами.

Спосіб здійснюється у наступному порядку.

Екстракцію із тирси сосни проводять в присутності ферментного препарату целовіридину в ацетатному буфері (рН=4,7) при гідромодулях 1:(5-10) протягом 1-8 годин і температурі 45-50 °С. Після закінчення процесу екстракції реакційну суміш кип'ятять протягом 10 хв., після охолодження фільтрують, упарюють до 1/2 вихідного об'єму, охолоджують і при постійному перемішуванні поступово вносять в 1,5-кратний об'єм етилового спирту. Рідку фазу декантують, осад арабіногалактану промивають етиловим спиртом і сушать при 40 °С.

Приклади здійснення способу, що заявляється.

Приклад 1

Тирсу деревини сосни (вологість 14,0 %) просіюють до розміру часток 0,3-0,5 мм. 10,0 г просіяної тирси заливають 70,0 см³ ацетатним буфером (рН 4,7), який містить целовіридин, в співвідношенні 1:7, витримують 6,0 год. у термостаті при 50 °С, після чого 10 хв. кип'ятять на водяній бані. Водний екстракт відфільтровують (52,0 см³), упарюють вдвічі до об'єму 26,0 см³ і при постійному перемішуванні вливають в 39,0 см³ етилового спирту. При цьому в осад випадає арабіногалактан. Рідку фазу декантують. Осад промивають 10,0 см³ етиловим спиртом три рази і сушать при температурі 40 °С. Вихід арабіногалактану при екстракції в присутності ферменту целовіридину становить 0,99 г, що в перерахунку на масу сухої деревини складає 10,7 % (табл. 2). Ступінь чистоти отриманого арабіногалактану - 99,8 %.

Приклад 2

Тирсу деревини сосни (вологість 14 %) просіюють до розміру часток 0,3-0,5 мм. 10,0 г просіяної тирси заливають 50,0 см³ ацетатним буфером (рН 4,7), який містить целовіридин, в співвідношенні 1:5, витримують 1,0 год. у термостаті при 45 °С, після чого 10 хв. кип'ятять на водяній бані. Водний екстракт відфільтровують (37,0 см³), упарюють вдвічі до об'єму 18,5 см³ і при постійному перемішуванні вливають в 28,0 см³ етилового спирту. При цьому в осад випадає арабіногалактан. Рідку фазу декантують. Осад промивають 10,0 см³ етиловим спиртом три рази і сушать при температурі 40 °С. Вихід арабіногалактану при екстракції в присутності ферменту

целовіридину становить 0,45 г, що в перерахунку на масу сухої деревини складає 4,9 % (табл. 1). Ступінь чистоти отриманого арабіногалактану - 99,7 %.

Приклад 3

5 Тирсу деревини сосни (вологість 14 %) просіюють до розміру часток 0,3-0,5 мм. 10,0 г просіяної тирси заливають 50,0 см³ ацетатним буфером (рН 4,7), який містить целовіридин, в співвідношенні 1:5, витримують 8,0 год. у термостаті при 45 °С, після чого 10 хв. кип'ятять на водняній бані. Водний екстракт відфільтровують (37,0 см³), упарюють вдвічі до об'єму 18,5 см³ і при постійному перемішуванні вливають в 28,0 см³ етилового спирту. При цьому в осад випадає арабіногалактан. Рідку фазу декантують. Осад промивають 10,0 см³ етиловим спиртом три рази і сушать при температурі 40 °С. Вихід арабіногалактану при екстракції в присутності ферменту целовіридину становить 0,61 г, що в перерахунку на масу сухої деревини складає 6,60 % (табл. 1). Ступінь чистоти отриманого арабіногалактану - 99,7 %.

Приклад 4

15 Тирсу деревини сосни (вологість 14 %) просіюють до розміру часток 0,3-0,5 мм. 10 г просіяної тирси заливають 50,0 см³ ацетатним буфером (рН 4,7), який містить целовіридин, в співвідношенні 1:5, витримують 6,0 год. у термостаті при 50 °С, після чого 10 хв. кип'ятять на водняній бані. Водний екстракт відфільтровують (37,0 см³), упарюють вдвічі до об'єму 18,5 см³ і при постійному перемішуванні вливають в 28,0 см³ етилового спирту. При цьому в осад випадає арабіногалактан. Рідку фазу декантують. Осад промивають 10,0 см³ етиловим спиртом три рази і сушать при температурі 40 °С. Вихід арабіногалактану при екстракції в присутності ферменту целовіридину становить 0,62 г, що в перерахунку на масу сухої деревини складає 6,67 % (табл. 2). Ступінь чистоти отриманого арабіногалактану - 99,7 %.

Приклад 5

25 Тирсу деревини сосни (вологість 14 %) просіюють до розміру часток 0,3-0,5 мм. 10,0 г просіяної тирси заливають 100,0 см³ ацетатним буфером (рН 4,7), який містить целовіридин, в співвідношенні 1:10, витримують 6,0 год. у термостаті при 50 °С, після чого 10 хв. кип'ятять на водняній бані. Водний екстракт відфільтровують (74,0 см³), упарюють вдвічі до об'єму 37,0 см³ і при постійному перемішуванні вливають в 55,5 см³ етилового спирту. При цьому в осад випадає арабіногалактан. Рідку фазу декантують. Осад промивають 10,0 см³ етиловим спиртом три рази і сушать при температурі 40 °С. Вихід арабіногалактану при екстракції в присутності ферменту целовіридину становить 0,82 г, що в перерахунку на масу сухої деревини складає 8,87 % (табл. 2). Ступінь чистоти отриманого арабіногалактану - 99,7 %.

Приклад 6

35 Тирсу деревини сосни (вологість 14 %) просіюють до розміру часток 0,3-0,5 мм. 10,0 г просіяної тирси заливають 50,0 см³ дистильованою водою в співвідношенні 1:5, витримують 6,0 год. у термостаті при 50 °С, після чого 10 хв. кип'ятять на водняній бані. Водний екстракт відфільтровують (37,0 см³), упарюють вдвічі до об'єму 18,5 см³ і при постійному перемішуванні вливають в 28,0 см³ етилового спирту. При цьому в осад випадає арабіногалактан. Рідку фазу декантують. Осад промивають 10,0 см етиловим спиртом три рази і сушать при температурі 40 °С. Вихід арабіногалактану при екстракції в присутності ферменту целовіридину становить 0,20 г, що в перерахунку на масу сухої деревини складає 2,20 % (табл. 1). Ступінь чистоти отриманого арабіногалактану - 99,3 %.

45 За результатами хроматографічних досліджень в гідролізатах зразків арабіногалактана ідентифіковано переважно галактозу, менше арабінози та незначна кількість уронових кислот (табл. 3).

50 Вилучений арабіногалактан являє собою порошок кремового кольору. В продукті, вилученому за біотехнологічним способом, в порівнянні з водною екстракцією, масова частка галактози по відношенню від арабінози дещо збільшувалася. Препарат розчинний у воді. Його водний розчин має коричневе забарвлення, питоме обертання $[\alpha]_D^{20}=+11$. Молекулярна маса отриманого продукту складає 10-30 kDa, а в його ІЧ-спектрі присутні смуги поглинання, характерні для арабіногалактану.

Таблиця 1

Вихід арабіногалактану із тирси сосни, г (t=45 °С, ГМ=1:5)

τ, год.	Водна екстракція	Екстракція у присутності ферментних препаратів			
		Целовіридин	Целокандин	Целолігнорин	Целоконінгін
1	0,08	0,45	0,44	0,30	0,42
2	0,12	0,50	0,50	0,32	0,46
4	0,17	0,59	0,56	0,39	0,50
6	0,20	0,62	0,58	0,38	0,48
8	0,20	0,61	0,55	0,38	0,46

Таблиця 2

Вихід арабіногалактану із тирси сосни, г (t=50 °С, τ=6 год.)

Гідромодуль	Екстракція у присутності ферментних препаратів			
	Целовіридин	Целокандин	Целолігнорин	Целоконінгін
1:5	0,62	0,58	0,38	0,48
1:7	0,99	0,90	0,58	0,71
1:10	0,82	0,71	0,50	0,59

Таблиця 3

Співвідношення галактози і арабінози

Приклад 1	Приклад 6
Gal: Ara 2,4:1,0	Gal: Ara 1,7:1,0

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання арабіногалактану, що включає екстракцію з тирси деревини хвойної породи, відокремлення екстракту і наступне його упарювання, осадження органічним розчинником цільового продукту, його промивання і сушіння, який **відрізняється** тим, що тирсу сосни екстрагують ацетатним буфером целовіридину при гідромодулі 1:(5-10) протягом 1-8 годин і температурі 45-50 °С, суміш кип'ятять, фільтрують, цільовий продукт осаджують етиловим спиртом і виділений таким чином цільовий продукт промивають етиловим спиртом та сушать.

10

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601